
M.C. Aceña
F. Liste
F.M. Gascón

Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria de Zaragoza.
c. Miguel Servet, 177
50013 Zaragoza

Biopsia de médula ósea en perro: técnica y utilidad diagnóstica.

37

RESUMEN

La biopsia de médula ósea demuestra ser una técnica importante en el diagnóstico de algunos procesos caninos. Se describen las indicaciones para la evaluación de una muestra de médula ósea en el perro así como la técnica detallada para la obtención de la misma.

PALABRAS CLAVE:

Médula ósea; biopsia; perro.

ABSTRACT

The bone marrow biopsy is revealed as a important tool in some canine diseases. Clinical indications for the assesment of canine bone marrow samples are described. A detailed technique to get the sample is also shown.

KEY WORDS

Bone marrow; biopsy; dog.

INTRODUCCIÓN

La médula ósea (M.O.) se localiza en las cavidades de ciertos huesos en el animal adulto (cuerpos vertebrales, costillas, esternón, huesos del cráneo, pelvis y epífisis proximales del fémur y húmero) y es el principal lugar de hematopoyesis. En ella se producen los eritrocitos, los granulocitos, los monocitos y las plaquetas, e incluso algunos linfocitos derivan de la M.O. aunque su principal lugar de producción sea el sistema linfático.

La evaluación de un aspirado o una biopsia de M.O. puede proporcionar una valiosa información diagnóstica y pronóstica, sobre todo en aquellos casos en los que las alteraciones observadas en sangre sugieran la existencia de un trastorno hematopoyético. Sin embargo, el valor diagnóstico y pronóstico de una muestra medular depende de la adecuada toma de la muestra y manejo de la misma y además está limitado por la habilidad, experiencia e incluso subjetividad del clínico que la interprete.

La interpretación citológica de una muestra medular requiere experiencia y sólo el examen repetido y rutinario de muestras permitirá su aprendizaje; sobre este tema existen buenas revisiones^(7, 9, 10, 12, 15). Este artículo pretende únicamente proporcionar una valoración general y gráfica para el veterinario práctico sobre los métodos de toma de muestras de M.O. y manejo de las mismas, procedimientos fáciles y rápidos de realizar y además de bajo coste económico.

INDICACIONES DEL EXAMEN DE M.O.

La evaluación de una muestra de M.O. está especialmente indicada en aquellas situaciones en las que existe o se sospecha de un fallo en el sistema hematopoyético y en las que las modificaciones en sangre no permitan un diagnóstico definitivo. Por ello, la toma de una muestra medular debe ir precedida de un correcto examen de sangre periférica y considerando además que la hematología debe valorarse conjuntamente con datos clínicos, bioquímicos o radiológicos. La evaluación de la muestra medular e interpretación de los resultados junto a los datos que acabamos de citar nos debe llevar al diagnóstico y pronóstico definitivos.

Como indicaciones cabe citar:

— Anemia no regenerativa: el examen de una muestra de M.O. nos permitirá distinguir las anemias de este tipo que se deben a hipoplasia o aplasia eritroide⁽⁵⁾, de las que tienen otra causa (anemias por deficiencias minerales o vitamínicas, asociadas a enfermedades crónicas, etc.).

— Pancitopenia: el llegar a determinar su causa requiere un examen de M.O., pues una disminución de células sanguíneas circulantes puede resultar de una disminución de su producción o de un aumento de su destrucción. Podremos realizar un diagnóstico diferencial según se encuentre una M.O. hipocelular o hiper celular⁽¹⁷⁾.

— Leucopenia y trombocitopenia persistentes: asociadas o no a anemias, como ocurre en casos de necrosis medular⁽¹⁹⁾. En cualquier caso podemos aplicar también el razonamiento anterior.

— Policitemia, leucocitosis o trombocitosis inexplicables.

— Problemas en la maduración de células hemáticas detectando en sangre células eritroides nucleadas con ausencia de policromasia (normoblastemia) o desviación neutrofílica a la izquierda sin que exista infección (reacción leucoeritroblástica), datos que pueden sugerir, entre otras, una alteración medular⁽¹⁴⁾.

— Sospecha de tumor hematopoyético por presencia de células eritroides o mieloides con morfología atípica en sangre periférica⁽³⁾. En estos casos el examen medular es imprescindible.

— Fiebre de origen desconocido. Por ejemplo, este síntoma junto con anorexia y depresión son los únicos signos clínicos que pueden aparecer en fases tempranas de leucemia granulocítica; por tanto, mediante el examen de una muestra de M.O. podremos emitir un diagnóstico precoz⁽⁶⁾.

— Hiperprotenemias con gammapatía monoclonal o policlonal: en el primer caso las muestras medulares pueden ser valiosas en el diagnóstico de procesos como el mieloma múltiple⁽¹²⁾, la leishmaniosis⁽⁸⁾, la ehrlichiosis⁽¹¹⁾ y algunos casos de linfoma⁽¹³⁾. En procesos con gammapatía policlonal como algunas micosis sistémicas (histoplasmosis) pueden observarse los microorganismos causantes de la enfermedad en preparaciones de M.O.⁽¹²⁾.

— **Hipercalcemia inexplicable:** En casos de linfoma multicéntrico la implicación medular es más probable en los animales que presentan hipercalcemia. En estos casos concretos, además, es más frecuente la ausencia de otros signos más característicos como linfadenopatía o esplenomegalia y la muestra medular puede ser el único medio de revelar la presencia de un infiltrado neoplásico linfoide⁽¹³⁾.

— **Linfoadenopatías:** la evaluación de una muestra de M.O. podrá aportar más datos para el diagnóstico dependiendo de la afección linfática de que se trate.

— **Disminución del hierro sérico:** La médula ósea es, junto con el hígado, bazo y el tejido muscular, uno de los lugares donde se almacenan las reservas de hierro orgánico. La determinación de hierro en los órganos citados constituye la técnica más sensible en la detección precoz de la deficiencia de hierro⁽¹⁸⁾, ya que el desarrollo de una anemia ferropénica (por causas hemorrágicas, procesos malabsortivos, o simple carencia de hierro en la dieta) sólo se produce cuando los depósitos férricos no hémicos orgánicos están agotados, siendo los clásicos signos clínicos de anemia microcítica e hipocrómica una manifestación tardía de la ferropenia. Si la causa de la anemia es netamente inflamatoria, la hipoferriemia irá acompañada de un incremento de los depósitos de hierro medulares⁽⁴⁾, fácilmente valorable por procedimientos específicos de tinción de los siderosomas macrofágicos^(1, 12).

— Asimismo, el examen de una preparación de una muestra M.O. puede ser de ayuda en el diagnóstico de enfermedades parasitarias como la leishmaniosis en la que podremos encontrar macrófagos medulares parasitados (foto 1). También, por ejemplo, existen casos descritos de parasitosis por *Babesia canis* en los que en muestras de sangre periférica no se observaban eritrocitos parasitados y, sin embargo, en muestras medulares se comprobó la presencia de un cierto número de células rojas que contenían el parásito⁽¹²⁾. Por último citar, en este sentido y aunque no sea un método de diagnóstico, que en preparaciones de M.O. de perros que padecen filariosis pueden observarse microfilarias debido a la contaminación de la muestra con sangre.

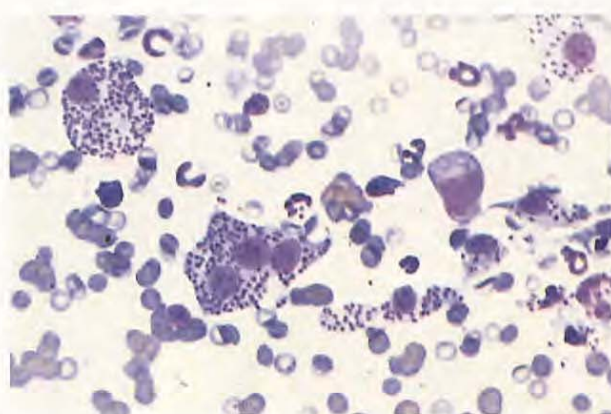


Foto 1. Extensión de un aspirado de M.O. teñido con «panóptico rápido» en la que se aprecian varios macrófagos parasitados por leishmanias.

TÉCNICAS PARA LA TOMA DE UNA MUESTRA DE M.O.

Existen dos técnicas básicas para la obtención de una muestra medular:

- Aspiración.
- Biopsia.

La información que proporcionan es distinta aunque complementaria. Con la aspiración se valora mejor la morfología individual de las células, permite identificar todos los tipos celulares y por tanto realizar el recuento diferencial y determinar la relación mieloide/eritroide. La biopsia, sin embargo, nos da idea del modelo estructural de la M.O. (pues conserva la arquitectura medular), de la celularidad global de la médula y es la técnica de elección cuando la muestra aspirada está muy hemodiluida o cuando la médula es hipocelular (sospecha de hipoplasia o aplasia) o ha sido reemplazada por tejido fibroso o graso; no obstante el procesamiento de la muestra biopsiada es más complejo que el de la muestra aspirada, como veremos más adelante.

Enumeraremos a continuación el material necesario para realizar ambas técnicas (foto 2):

- Desinfectante cutáneo.
- Anestésico local.
- Bisturí.
- Agujas de biopsia/aspiración.

40

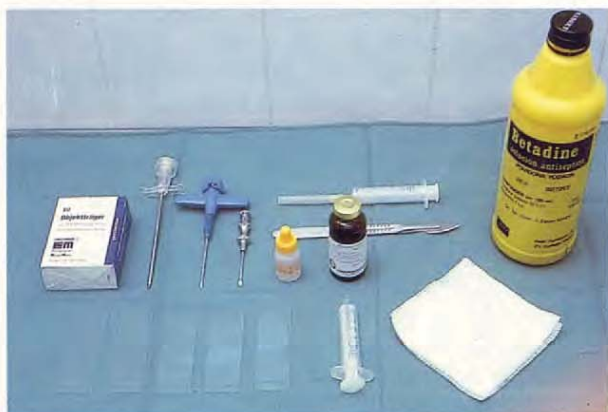


Foto 2. Material necesario para realizar una toma de muestra medular.

- Jeringas desechables de 5-10 ml para la aspiración.
- Portaobjetos.
- Formol al 10 %.
- Opcionalmente, anticoagulante (EDTA o citrato sódico al 3,8 %) para evitar la coagulación de la muestra aspirada y del que añadiremos una gota a la jeringa de aspiración. No olvidar que la mayor presencia de materia orgánica en el aspirado acelera la coagulación del mismo.

Como puede verse se trata de material de uso rutinario en clínica. El único material específico son las agujas (foto 3). Las más utilizadas son de los tipos Jamshidi, Jamshidi-Illinois o Rosenthal, desechables o no. En principio todas pueden utilizarse tanto para biopsia como para aspiración dependiendo de su diámetro. Los diámetros de las agujas de aspiración son mayores que los de las agujas de biopsia (15-18 g y 11-13 g respectivamente) y generalmente las agujas de biopsia son más largas que las de aspiración. La ventaja de la aguja Jamshidi es que además de poderse utilizar para biopsia y para aspiración, su forma de T facilita los movimientos de rotación para su introducción en la cavidad medular. Por otra parte, el uso de topes en algunas agujas, como la Jamshidi-Illinois, mediante la rotación de una guarda de plástico, es interesante para controlar la profundidad de la biopsia.



Foto 3. Agujas de biopsia medular (las dos desechables son agujas de Jamschidi; la de acero corresponde a una aguja de Rosenthal).

Lugares para la toma de muestras

En principio puede ser cualquiera que contenga M.O. activa, pero los lugares más frecuentemente utilizados por tener mayor actividad hematopoyética y ser más accesibles son:

— Cresta ilíaca y epífisis proximales del fémur y húmero para aspiración, aunque también permiten la biopsia.

— Ala del ilion para biopsia, aunque lógicamente también se podrá realizar aspiración en esta localización.

— Otros: costilla y esternón, aunque no son los más idóneos pues en estos lugares prácticamente sólo se puede realizar aspiración y la cantidad de aspirado que se obtiene es insignificante.

En general, el lugar de elección viene determinado por la talla y conformación del animal y lógicamente por el dominio de la técnica que posea cada clínico sobre uno de estos lugares. La cresta ilíaca es el lugar más utilizado, sobre todo en perros de talla media-grande⁽¹⁶⁾.

Técnica

— Colocar al animal en decúbito lateral cuando se elija la epífisis proximal del húmero o del fémur y el ala del ilion como lugar de toma de

42

muestra. Si se va a realizar en la cresta ilíaca el animal puede colocarse en decúbito lateral o ventral.

— Preparar quirúrgicamente la zona mediante depilación y desinfección de un área de aproximadamente 6 cm².

— Infiltrar el tejido subcutáneo, músculos adyacentes y periostio de lugar donde se va a insertar la aguja con anestésico local (foto 4). Normalmente no es necesario sedar al animal.

— Realizar una pequeña incisión en la piel de tamaño suficiente (1-2 mm) para permitir la penetración de la aguja (la sutura posterior no será necesaria) (foto 5).

— Inserción de la aguja:

— En la epífisis proximal de húmero:

Estabilizar el húmero sujetando el codo y flexionando el brazo hasta palpar un área aplanada entre el tubérculo mayor y la cabeza del húmero. Insertar la aguja hasta hacer contacto con el hueso y realizar movimientos de rotación a derecha e izquierda dirigiendo la aguja hacia el codo y manteniéndola siempre paralela a la caña del húmero. La aguja se introduce de 2 a 4 cm según la talla del animal. Para asegurar su correcta colocación hay que flexionar y extender la articulación escapulo-humeral y la aguja debe seguir los movimientos del húmero (foto 6).

— En la epífisis proximal del fémur:

El abordaje puede ser dorsal o lateral.

Para el abordaje dorsal, estabilizar el fémur sujetando la rodilla. Insertar la aguja a través de la piel y fascia en la fosa trocantérea y realizar a continuación movimientos de rotación a derecha e izquierda dirigiendo la aguja paralela a la diáfisis femoral en dirección a la rodilla. La aguja está bien colocada si se mueve en el mismo plano que el fémur (foto 7).

Para el acceso lateral, fijar el fémur presionando el trocánter mayor en la articulación coxofemoral. Introducir la aguja lateralmente a la caña del fémur, aproximadamente en el área correspondiente al tercer trocánter. Realizar movimientos de rotación a derecha e izquierda haciendo avanzar la aguja en la cavidad medular.

— En la cresta ilíaca:

Fijar el ala del ilion sujetando sus vértices dorsal y ventral. Palpar la porción más ancha y dorsal de la cresta ilíaca e introducir la aguja en dirección perpendicular a la misma, mediante movi-



Foto 4. Infiltración anestésica del área a biopsiar.



Foto 5. Antes de introducir la aguja de biopsia, se realiza un pequeño orificio con la punta del bisturí.



Foto 6. Aguja de Rosenthal introducida en la epífisis proximal del húmero.

mientos de rotación a derecha e izquierda. Algunos autores recomiendan la introducción de la aguja en dirección paralela al eje longitudinal del ala del ilion⁽²⁾ (foto 8).

— En el ala del ilion:

Con el animal colocado en decúbito lateral insertar la aguja perpendicularmente a la cara lateral del ilion a través del músculo glúteo medio, realizando movimientos de rotación a derecha e izquierda.

— Una vez colocada la aguja en la cavidad medular procederemos a realizar la aspiración, la biopsia o ambas:

Aspiración

Retirar el fiador o estilete de la aguja, colocar la jeringa de succión y realizar la aspiración con la misma (foto 9). Cuando aparezca muestra en la jeringa debe eliminarse la presión negativa pues sucesivas aspiraciones pueden provocar hemodilución de la muestra por rotura de capilares medulares. La muestra suele aparecer lentamente en la jeringa, si lo hace rápidamente es probable que esté hemodiluida. Es suficiente obtener 1-1,5 cc de aspirado. Si la aguja está bien colocada en la cavidad medular, el animal suele mostrar un dolor evidente al realizar la aspiración.

En caso de no obtener muestra al realizar el vacío con la jeringa en repetidas ocasiones, lo más aconsejable es volver a colocar el fiador, retirar la aguja e introducirla de nuevo, asegurándose del correcto funcionamiento y no obstrucción de la aguja. Colocar simplemente el fiador e introducir el conjunto más profundamente, es decir sin antes extraer la aguja, no da siempre buen resultado.

Biopsia

Una vez introducida la aguja, se retira el fiador y con los mismos movimientos de rotación se penetra otros dos centímetros aproximadamente y finalmente se realizan movimientos de rotación en una sola dirección sobre el eje longitudinal de la aguja antes de retirarla de la cavidad medular quedando en su interior un cilindro de tejido medular.



Foto 7. Aguja de Jamshidi colocada en epífisis proximal de fémur mediante abordaje dorsal.



Foto 8. Aguja de Rosenthal insertada en cresta iliaca paralela al eje longitudinal del ala del ilión.



Foto 9. Aspiración de contenido medular en cresta iliaca tras el abordaje perpendicular con aguja de Rosenthal.

44



Foto 10. Realización del frotis a partir del aspirado medular.



Foto 11. Tinción de Pearls: depósitos de hierro como hemosiderina teñidos de azul en el interior de un macrófago medular.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

— De la muestra obtenida por aspiración se toma una gota, se deposita sobre un portaobjetos y se realiza un frotis del mismo modo que en el caso de extensiones de sangre periférica (foto 10). Si no se utiliza anticoagulante en la jeringa los frotis se deben realizar rápidamente, unos segundos son suficientes para que se coagule la muestra. Además, puede hacerse colocando una gota en el centro del portaobjetos y superponiendo otro presionando y separándolo después verticalmente; este procedimiento es aconsejable ante sospecha de neoplasia pues provoca menos roturas en las frágiles células tumorales.

Si se obtienen fragmentos de tejido medular en el aspirado, puede realizarse el aplastamiento de los mismos superponiendo otro portaobjetos sobre el primero, separándolo luego con cuidado.

En caso de muestras hemodiluidas o con fragmentos o espículas visibles de tejido medular, para separarlos o eliminar el exceso de sangre se coloca el portaobjetos, con la gota de aspirado en uno de sus vértices, en posición vertical para que resbale la sangre sobrante o queden las espículas medulares en la parte superior del portaobjetos.

— Cuando la muestra ha sido obtenida por biopsia, el cilindro de tejido medular se extrae del interior de la aguja con la ayuda del fiador con

mucho cuidado y se conserva en formol al 10 % para ser procesado por técnica histológica; es decir, deberemos remitirlo a un laboratorio histopatológico.

También se pueden realizar improntas del tejido biopsiado sobre un portaobjetos.

Métodos de tinción

Las preparaciones de muestras aspiradas, una vez secas, se tiñen con las mismas técnicas que las empleadas para frotis sanguíneos. Pueden utilizarse, por tanto, tinción de Giemsa, May-Grumwald-Giemsa o incluso un método Panóptico rápido, de lo que se deduce que puede realizarse en cualquier pequeño laboratorio.

Las muestras de biopsia medular, previo tratamiento histológico (inclusión en parafina, cortes con microtomo, etc) se tiñen normalmente con la técnica de la hematoxilina-eosina.

Para el estudio de los depósitos de hierro en ambos tipos de muestras se requiere una tinción específica como la de Pearls o Azul de Prusia muy sencilla de realizar^(1, 2) (foto 11).

Asimismo, para identificar los tipos celulares implicados en casos de leucemia se emplean técnicas citoquímicas o inmunohistoquímicas que lógicamente se realizan en laboratorios especializados.

BIBLIOGRAFÍA

46

1. Aceña, M.C. Estudio de la médula ósea. En: Gómez et al, Manual Práctico de Análisis Clínicos en Veterinaria. Ed. Mira Editores, 77-95, 1992.
2. Dunn, J. Bone marrow aspiration and biopsy in dogs and cats. *In Practice*. 12: 200-206, 1990.
3. Evans, R.J., Gorman, N.T. Myeloproliferative disease in the dog and cat: definition, aetiology and classification. *Vet. Rec.* 121: 437-443, 1987.
4. Feldman, B.F., Kaneko, J.J., Farver, T.B. Anemia of inflammatory disease in the dog: clinical characterization. *Am. J. Vet. Res.* 42: 1109-1113, 1981.
5. Gilmour, M., Lappin, M.R., Thrall, M.A. Investigating primary acquired pure red cell aplasia in dogs. *Vet. Med.* 86: 1119-1204, 1991.
6. Gorman, N.T., Evans, R.J. Myeloproliferative disease in the dog and cat: clinical presentations, diagnosis and treatment. *Vet. Rec.* 121: 490-496, 1987.
7. Grindem, C.B. Bone marrow biopsy and evaluation. *Vet. Clin. N. Am.* N. Am.: Small anim. prac. 9: 669-696, 1989.
8. Groulade, P., Bourdeau, P. Moyens pratiques de mise en évidence des leishmanies. Special leishmanose. Pratique médicale et chirurgicale de l'animal de compagnie, 23, suppl. 5: 5-88, 1988.
9. Harvey, J.W. Canine bone marrow: normal haematopoiesis, biopsy technique and cell identification and evaluation. *Compend. Cont. Educ.* 6: 909-925, 1984.
10. Jain, N.C. Schalm's Veterinary Hematology. 4th. Ed. Lea & Febiger. Philadelphia, 1986.
11. Kuehn, N.F., Gaunt, S.D. Clinical and hematologic findings in canine ehrlichiosis. *J.A.V.M.A.* 186: 355-358, 1985.
12. Lewis, H.B., Rebar, A.H. Bone marrow evaluation in veterinary practice. Ralston Purina Company, 1979.
13. Madewell, B.R. Haematological and bone marrow abnormalities in 75 dogs with malignant lymphoma. *J. Amer. Anim. Hosp. Assoc.* 22: 235-240, 1986.
14. Mandell, C.P., Jain, N.C., Farver, T.B. The significance of normoblastemia and leukoerythroblastic reaction in the dog. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 25: 665-672, 1989.
15. Penny, R.H.C. Bone marrow of the dog and cat. *J. Small Anim. Pract.* 15: 553-562, 1974.
16. Reldord, R.L. The steps in performing a bone marrow aspiration and core biopsy. *Vet. Med.* 86: 670-688, 1991.
17. Shelly, S.M. Causes of canine pancytopenia. *Compend. Cont. Educ.* 10: 9-16, 1988.
18. Torrance, J.D., Bothwell, T.H. Tissue iron stores. En: Methods in hematology. Vol. 1: Iron, J.D. Cook. Ed. Churchill Livingstone, 90-115, 1980.
19. Weiss, D.J., Armstrong, P.J., Reimann, K. Bone marrow necrosis in the dog. *J.A.V.M.A.* 187: 54-59, 1985.